

УТВЕРЖДАЮ

Федеральное государственное
бюджетное учреждение науки
Институт химической биологии и
фундаментальной медицины
Сибирского отделения Российской
академии наук, директор, доктор
химических наук

В.В. Коваль

« 28 » мая 2025 г.



ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

о научно-практической значимости диссертационной работы
Фархада Сайдикаримовича Олжаева «Морфофункциональные
особенности репаративной регенерации костной ткани при использовании
модифицированных мезенхимальных стволовых клеток», представленной
на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по
специальности 1.5.22. Клеточная биология

Актуальность темы выполненной работы

Лечение остеопороз-ассоциированных переломов представляет собой одну из ключевых проблем современной медицины и регенеративной биологии. Остеопороз является широко распространённым заболеванием, особенно среди пожилых людей, и характеризуется снижением минеральной плотности кости и ухудшением её структурной целостности, что приводит к повышенному риску переломов и значительному снижению качества жизни пациентов. Традиционные методы лечения, такие как применение бисфосфонатов, обладают определёнными ограничениями, включая необходимость длительного приёма, риск побочных эффектов и недостаточную эффективность при тяжёлых формах остеопороза. В связи с этим, разработка новых стратегий клеточной терапии, направленных на регенерацию костной ткани, является актуальной задачей. В последнее время значительное внимание уделяется применению мезенхимальных стволовых клеток, обладающих высокой способностью к пролиферации, остеогенной дифференцировке и

модуляции костного ремоделирования. Однако возрастные изменения, а также низкое сродство мезенхимальных стволовых клеток к костной ткани требуют разработки новых подходов к их модификации для повышения эффективности терапии. Снижение плотности и прочности кости при остеопорозе происходит не только из-за усиления функциональной активности остеокластов, но также в результате снижения количества клеток-предшественников остеобластов и развития так называемой «остеогенной недостаточности», и как следствие, невозможности обеспечения надлежащего уровня остеорепарации. В этой связи одним из многообещающих направлений в лечении остеопороз-зависимых переломов, может быть, клеточная терапия мезенхимальными стволовыми клетками, являющимся предшественниками остеобластов. Это позволяет считать данную научно-квалификационную работу актуальной и весьма значимой для клеточной терапии, которая характеризует морфофункциональные особенности репаративной регенерации костной ткани у крыс при использовании модифицированных остеофильным полимером и таргетированных по Cdc42 аллогенных мезенхимальных стволовых клеток.

Новизна исследования и полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Разработан новый способ стимуляции репаративного остеогенеза в зоне перелома костей при остеопорозе и схожих патологиях костной ткани (патент Республики Казахстан на изобретение № 34147 от 07.02.2020). Данный способ представляет собой новейший подход в стимуляции репаративной регенерации при лечении костных переломов на фоне возраст-ассоциированных патологических состояний, таких как остеопороз. Впервые изучено влияние остеофильного бисфосфонатного полимера на пролиферацию мезенхимальных стволовых клеток стромально-васкулярной фракции жировой ткани крыс. Доказано, что остеофильный полимер не

является цитотоксичным и не оказывает влияния на скорость пролиферации мезенхимальных стволовых клеток *in vitro*. Приоритетными являются данные о том, что полимер способен ингибировать резорбтивную активность остеокластов прямо пропорционально своей концентрации. Новизна метода заключается в применении мезенхимальных стволовых клеток, модифицированных синтетическим остеофильным бисфосфонатным полимером, который, обеспечивает стабильное связывание мезенхимальных стволовых клеток с поверхностью костной ткани, увеличивая, таким образом, пул клеток-предшественников остеобластов в зоне перелома и предотвращает деминерализацию костной ткани ингибированием резорбтивной активности остеокластов, что подтверждается увеличением плотности костной ткани на 21,5 % при переломе локтевой кости у крыс-самок с эстроген-зависимым остеопорозом. Также новыми являются данные о том, что наиболее выраженное восстановление пула остеобластов/остеоцитов и предшественников хондробластов/хондроцитов происходило при использовании мезенхимальных стволовых клеток, обработанных CASIN и siRNA. При этом на модели перелома локтевой кости у старых крыс показано статистически значимое увеличение плотности костной ткани, соответственно, на 44 и 93 % через четыре месяца после остеотомии.

Проведённые исследования продемонстрировали эффективность двух подходов, направленных на стимуляцию процессов костной регенерации: использование остеофильного полимера и трансплантацию мезенхимальных стволовых клеток, модифицированных с ингибированием Cdc42. Остеофильный полимер проявил выраженные антиостеокластные свойства *in vitro*, снижая резорбтивную активность остеокластов в дозозависимой манере, при этом не оказывая токсического воздействия на мезенхимальные стволовые клетки и не нарушая их остеогенную дифференцировку. В условиях *in vivo* локальное применение остеофильного полимера способствовало улучшению репаративного остеогенеза, повышению плотности костной ткани и восстановлению костной структуры при

моделировании эстроген-зависимого остеопороза. Отдельно проведённые эксперименты с мезенхимальными стволовыми клетками, подвергнутыми ингибированию белка Cdc42 с использованием CASIN и siRNA, показали, что такая модификация усиливает остеогенные, миграционные и антиостеокластные свойства клеток у возрастных животных. Трансплантация модифицированных мезенхимальных стволовых клеток привела к значительному усилению неоостеогенеза, более высокой плотности костной ткани, улучшенной архитектонике костной мозоли и восстановлению клеточного пула остео- и хондрогенных клеток на поздних этапах регенерации.

Использование мезенхимальных стволовых клеток после воздействия на них полимера значительно улучшает процесс репаративного остеогенеза с различной степенью структурно-функционального созревания клеточного и межклеточного субстрата, а ингибирование Cdc42 с помощью CASIN и siRNA приводит к повышению остеогенного, миграционного и антиостеокластного потенциала мезенхимальных стволовых клеток, выделенных у старых животных (24 месяца, что соответствует 72 годам у человека). Таким образом, оба подхода продемонстрировали высокий потенциал для применения в восстановительной медицине и лечении нарушений костной регенерации, в том числе возрастных и гормонально обусловленных форм остеопороза. Полученные результаты могут стать основой для дальнейшей разработки персонализированных и клеточно-ориентированных терапевтических стратегий.

Научная и практическая значимость полученных результатов

Научно-квалификационная работа Ф.С. Олжаева позволяет оценить влияние мезенхимальных стволовых клеток и остеофильного синтетического бисфосфонатного полимера на остеопороз. Изучение комплексной реакции костной ткани показало значительное улучшение процесса репаративного остеогенеза с различной степенью структурно-функционального созревания

клеточного и межклеточного субстрата при переломе локтевой кости у крыс-самок с эстроген-зависимым остеопорозом. Результаты исследования свидетельствуют о том, что обработанные остеофильным полимером мезенхимальные стволовые клетки могут быть использованы при дальнейших экспериментах на лабораторных животных для оценки эффективности предлагаемого метода стимуляции репаративного остеогенеза *in vivo* с использованием экспериментальной модели остеопороза с созданием остеопороз-ассоциированных переломов трубчатых костей. Вторая часть исследования посвящена методу снижения активности белка Cdc42 в мезенхимальных стволовых клетках, полученных от возрастных животных, с целью улучшения исходов клеточной терапии возраст-ассоциированных травматических переломов кости. Понимание ключевых молекулярных механизмов, лежащих в основе старения стволовых клеток, является фундаментом для разработки новых стратегий омоложения, регенеративной медицины и клеточной терапии. Целенаправленное ингибирование активности белка Cdc42 перед трансплантацией мезенхимальных стволовых клеток значительно улучшало формирование незрелой костной мозоли и процесс ее трансформации в зрелую трубчатую кость у возрастных животных, причем наиболее значимые изменения происходили при трансфицировании siRNA. Эти результаты подтверждают перспективность и целесообразность применения метода таргетирования Cdc42 в рамках комбинированной терапии переломов у пожилых людей.

Обоснованность и достоверность полученных результатов

Диссертационное исследование проведено методически корректно. Методология диссертации основана на современных принципах системного анализа и включает экспериментальные исследования на крысах, световую микроскопию, биохимические, морфометрические и гистологические методы (программа ImageJ), иммунофлюоресценцию, клеточные технологии, компьютерную томографию. Для достижения

поставленной цели сформулированы адекватные задачи и положения, выносимые на защиту. Системный статистический анализ с учетом характера распределения определяют репрезентативность, обоснованность и достоверность результатов исследования, выводов и теоретических положений. Обоснованность полученных автором результатов и положений сравнивали сопоставлением с данными отечественных и зарубежных исследований.

Полнота изложения результатов диссертации в опубликованных работах

По теме диссертации опубликовано 24 научные работы, в том числе 1 патент на изобретение и 6 статей в научных журналах и изданиях, включённых в перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук (6 статей в журналах категории K1, 1 публикация в издании категории K2, входящих в список изданий, распределённых по категориям K1, K2, K3, в том числе 4 статьи в журналах, входящих в международные реферативные базы данных и систем цитирования Scopus и Web of Science).

Представленный материал соответствует специальности 1.5.22. Клеточная биология. Автореферат соответствует содержанию диссертации, написан четким, лаконичным и грамотным языком. В нем, как и публикациях отражены, основные положения и выводы диссертационной работы.

Замечания

Принципиальных замечаний по выполненному исследованию нет. В целом – это завершённая научно-квалифицированная работа. Вместе с тем, в ходе изучения работы, были найдены некоторые неясные положения, которые требуют дополнительного обсуждения:

1. Целесообразно разработать и обсудить план перехода от модели *in vivo* к клиническим испытаниям. Каковы потенциальные пути клинической трансляции: местное применение, системное, с использованием носителей? Есть ли предварительные данные по безопасности у других видов (например, приматов)? Какова возможность масштабируемости получения и использования мезенхимальных стволовых клеток в клинике?
2. При оценке структуры костной мозоли проводились ли биомеханические тесты на ее прочность? Почему так долго восстанавливался дефект локтевой кости, это особенность эксперимента или связано с другими причинами?
3. Какова специфичность используемого siRNA? Были ли проведены контрольные эксперименты на off-target эффекты?

Заключение

Диссертация Фархада Сайдикаримовича Олжаева «Морфофункциональные особенности репаративной регенерации костной ткани при использовании модифицированных мезенхимальных стволовых клеток», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.22. Клеточная биология, является законченной научно-квалификационной работой, в которой решена актуальная задача оценки регенераторного потенциала мезенхимальных стволовых клеток, модифицированных полимером, и клеток, ингибированных Cdc42, на моделях остеопороза и у старых животных.

Диссертация Олжаева Ф.С. по методическому уровню, актуальности, научной новизне, содержанию, теоретической и практической значимости полученных результатов полностью соответствует требованиям п. 9. «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013г. (в ред. Постановления Правительства РФ от 01.10.2018 № 1168), предъявляемым

ВАК Минобразования и науки РФ к диссертационным работам на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор Фархад Сайдикаримович Олжаев заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.22. Клеточная биология.

Отзыв заслушан, обсужден и одобрен на заседании лабораторий инвазивных медицинских технологий, персонализированной медицины и геномных медицинских технологий Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук 5 мая 2025 г., протокол № 5.

**Главный научный сотрудник лаборатории
Инвазивных медицинских технологий
доктор медицинских наук, профессор**

[Подпись] Майбородин Игорь Валентинович

**Начальник отдела кадров
ИХБФМ СО РАН**



[Подпись]

Гамисаев ОМ

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук.

Адрес: 630090, г. Новосибирск, ул. Ак. Лаврентьева, д. 8.

тел. +7 (383) 3635177, факс: +7 (383) 3635153

e-mail: niboch@niboch.nsc.ru

сайт организации: <https://www.niboch.nsc.ru>



Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук	
Подпись	<i>Майбородина И.В.</i>
Уч. секретарь	<i>Могашенко Е.Б.</i>